

RELACIÓN ENTRE EL TAMAÑO DEL HOSPEDADOR Y LA INTENSIDAD DE INFECCIÓN DE UN ALGA EPIBIONTE

Carmen Pérez Martínez y José Barea Arco

Instituto del Agua, Ramón y Cajal 4, Universidad de Granada, 18071-Granada

RESUMEN

El alga epibionte *Korshikoviella gracilipes* se adhiere al zooplancton de la laguna de Río Seco (Sierra Nevada). Su principal hospedador es el cladóceros *Daphnia pulicaria*, presentando este taxon valores altos de prevalencia e intensidad de infección por el epibionte. Nuestros resultados muestran que no existe relación entre el tamaño de los individuos hospedadores y la prevalencia e intensidad de infección de los mismos. La ausencia de relación puede deberse al incremento de la tasa de encuentro entre epibionte y hospedador como consecuencia de la estrecha asociación espacial entre ambas especies en la laguna de Río Seco.

Palabras clave: alga epizoica, *Daphnia*, tamaño hospedador, intensidad infección, prevalencia

ABSTRACT

The algal epibiont *Korshikoviella gracilipes* attaches to zooplankton species in Lake Río Seco (Sierra Nevada). *Daphnia pulicaria* is the main host of the epibiont, showing the highest values of prevalence and burden. Our results show there is no relation between host size, prevalence and burden. This fact could be explained by the increased encounter rate between epibiont and host because of the close coincidence of patches of both organisms in this lake.

Keywords: algal epibiont, *Daphnia*, host size, burden, prevalence

INTRODUCCIÓN

Los epibiontes son organismos que viven la mayor parte de su ciclo de vida adheridos a otro organismo, el hospedador. En su ciclo de vida presentan una fase de dispersión, de vida libre, y una fase de crecimiento y reproducción, adherida a un sustrato. Los epibiontes sobre crustáceos zooplanctónicos han merecido considerable atención recientemente (Allen *et al.*, 1993; Chiavelli *et al.*, 1993; Threlkeld *et al.*, 1993; Threlkeld & Willey, 1993; Weissmann *et al.*, 1993; Al-Dhaheeri & Willey, 1996; Carman & Dobbs, 1997; Polz *et al.*, 1998). Los crustáceos mudan su exoesqueleto regularmente, de modo que la fase de vida fija y el periodo reproductor de los epibiontes adheridos a su exoesqueleto están limitados al periodo entre mudas del hospedador. Cuando se produce la muda los epibiontes se

desprenden junto con el viejo caparazón. Deben abandonar entonces el mismo y encontrar un nuevo sustrato al que adherirse. Por tanto, el éxito de un epibionte sobre crustáceos depende en gran medida de un eficiente mecanismo de colonización y desarrollo sobre el hospedador. Uno de los factores que pueden afectar a la tasa de colonización del epibionte es el tamaño del hospedador. Por ejemplo, el tamaño del hospedador influye sobre la tasa de encuentro entre epibionte y hospedador y sobre el crecimiento del epibionte sobre el hospedador a través de la duración del periodo entre mudas (Allen *et al.*, 1993; Threlkeld *et al.*, 1993; Gaiser & Bachmann, 1993; Stirnadel & Ebert, 1997).

Korshikoviella gracilipes es un alga verde epibionte que se adhiere a las especies zooplanctónicas de la laguna de Río Seco (Sierra Nevada). Su ciclo de vida se completa únicamente sobre el

cladóceros *Daphnia pulicaria* (Sánchez Castillo, 1987). Las densidades de *D. pulicaria* y el epibionte se relacionan espacial y temporalmente en la laguna y este taxon presenta la mayor intensidad de infección por el epibionte (Barea-Arco *et al.*, 2001). El mecanismo de colonización del epibionte parece ser muy eficiente sobre *D. pulicaria*. Por ello resulta de interés conocer los factores que influyen sobre la tasa de colonización del epibionte sobre *D. pulicaria*. En este trabajo se analiza la relación existente entre el tamaño de los individuos de *D. pulicaria* y la presencia y el grado de infección de *K. gracilipes*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sistema estudiado

Rio Seco es una pequeña laguna (1920 m², $z_{\max}=2.90$ m) situada a 3040 metros s.n.m. en la cordillera de Sierra Nevada (Granada). La laguna permanece helada desde Noviembre hasta Junio aproximadamente, es oligo-mesotrófica y presenta visibilidad total del disco de Secchi. La comunidad planctónica es muy simple. El fitoplancton esta compuesto por unas 10 especies nanoplánctónicas, siendo las dominantes *Chromulina nevadensis*, *Ochromonas* sp., *Dictyosphaerium chlorelloides* y las zoosporas del alga epizoica *K. gracilipes*. Las especies zooplánctónicas dominantes son el calanoide *Mixodiptomus laciniatus* y el cladóceros *Daphnia pulicaria*.

Ciclo de vida de *K. gracilipes*:

K. gracilipes presenta un ciclo de vida complejo (Sánchez-Castillo, 1987). El ciclo de vida asexual comprende cinco formas de vida: zoospora, clorangioides, anluroides, adulto y ciste.

Las zoosporas son células biflageladas planctónicas (largo = 7.98 ± 1.30 μm ($x \pm \text{s.d.}$), ancho = 3.90 ± 0.75 μm ; biovolumen = 69.00 ± 37.31 μm^3 , $n = 1495$). La fase de zoospora es la fase dispersiva del epibionte. Cuando una zoospora encuentra un organismo sustrato se adhiere por su región apical y pierde el flagelo durante el proceso, transformándose en clorangioides. Los clorangioides se transforman en

anquiroides mediante división transversal. Los anquiroides son entonces organismos bicelulares que derivan en adultos por alargamiento celular y sucesivas divisiones transversales. La fase adulta (largo = 140.69 ± 64.65 μm , ancho = 10.14 ± 2.85 μm ; biovolumen = 14447.70 μm^3 , $n = 543$) es la fase reproductiva del ciclo de vida de *K. gracilipes*. Cada adulto puede producir zoosporas por mitosis y, bajo ciertas condiciones, cistes. Los cistes son formas de resistencia que sobreviven al invierno.

Los clorangioides se adhieren fundamentalmente sobre *M. laciniatus* y *D. pulicaria*. Los anquiroides y adultos se encuentran casi exclusivamente sobre el aparato filtrador de *D. pulicaria*, de modo que *K. gracilipes* unicamente completa su ciclo de vida sobre *D. pulicaria*.

Recolección y análisis de las muestras

Las muestras de plancton se tomaron en cinco puntos (1-5) de la laguna desde Julio a Noviembre de 1996. El área del lago se dividió en cinco zonas y se tomó una muestra aleatoriamente en cada una de las zonas. El fitoplancton y zooplancton se recolectó de una muestra homogénea de 10 litros de agua bombeada con una bomba eléctrica desde 0.5 metros por encima del fondo de la laguna en cada punto de muestreo. Las muestras de fitoplancton (100 ml) se fijaron inmediatamente con Lugol. El zooplancton se filtró por una red de 40 μm de tamaño de poro y se fijó con formol al 4% azucarado. El recuento de especies fito y zooplánctónicas se realizó con un microscopio invertido Leitz según la técnica de Utermohl.

Para el análisis de la relación entre tamaño de *D. pulicaria* e infección por *K. gracilipes* se midieron y examinaron los individuos de *D. pulicaria* de cada punto y día de muestreo. El tamaño se estimó mediante la medida de la longitud del cuerpo entre la base de la espina y la parte superior del ojo. En muestras con menos de 100 individuos se examinaron todos ellos y en muestras mayores se analizaron al menos 100 individuos. La prevalencia del epibionte, definida como el porcentaje de individuos con epibiontes, se calculó para cada muestra. La intensidad de infec-

cion, definida como el número de epibiontes sobre un organismo sustrato, se midió siguiendo una escala visual arbitraria del 0 al 5, con 0= ausencia de infección y 5= máxima infección (Barea-Arco *et al.*, 2001). En el año 1996 la prevalencia y densidad de infección por adultos de *K. gracilipes* fue extremadamente baja. Por ello en este trabajo nos referimos únicamente al estudio de la infección por clorangioides.

La tasa de colonización por un epibionte sobre un hospedador puede depender considerablemente de las probabilidades de encuentro entre ambos, lo cual depende a su vez de la densidad de ambas poblaciones (Threlkeld *et al.*, 1993). Por esta razón, el análisis de la relación entre tamaño del hospedador e intensidad de infección (prevalencia y grado de infección) se realizó para cada muestra individual (cada punto y día de muestreo) y no para el conjunto de todas ellas con el fin de asegurar que todos los individuos analizados se encuentren en las mismas condiciones.

RESULTADOS

Los primeros individuos de *D. pulicaria* se observaron a principios de Agosto (Fig. 1). La densidad poblacional presentó valores bajos durante todo el mes; aumento considerablemente a partir de Septiembre y mantuvo valores altos hasta el final del periodo de muestreo. El tamaño medio de los individuos aumentó al avanzar el periodo libre de hielo, probablemente debido a que el incremento de la densidad poblacional se realiza a través de juveniles procedentes de efipios al principio del periodo. La prevalencia media y la intensidad media de infección muestran una correlación positiva con la densidad de *D. pulicaria* (Fig. 1; correlación de Pearson; prevalencia, $r = 0.84$, $p = 0.001$; intensidad de infección, $r = 0.78$, $p = 0.003$).

El análisis entre el tamaño y prevalencia e intensidad de infección se ha realizado sobre las muestras del 3 de Septiembre en adelante para evitar los primeros días de muestreo, donde la mayoría de los individuos son juveniles y el número de individuos y la intensidad de la infec-

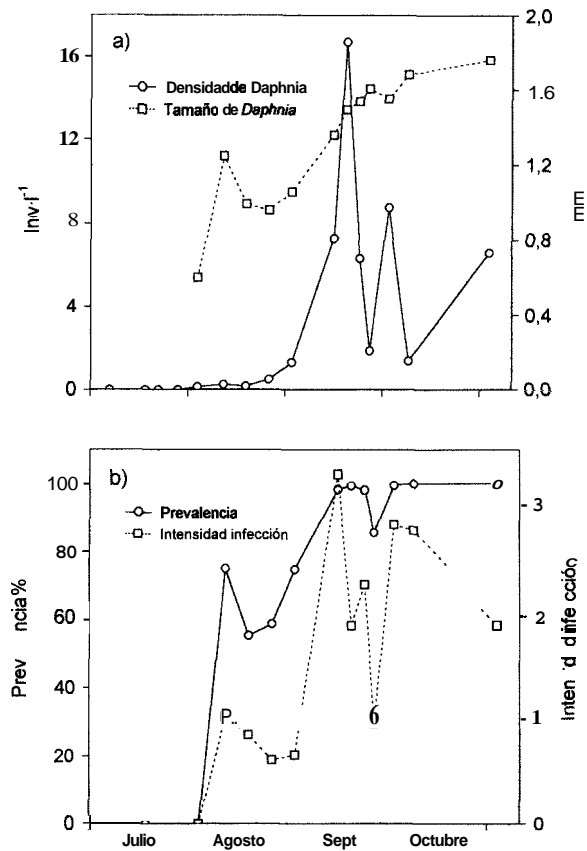


Fig. 1. a) Densidad y tamaño y b) prevalencia e intensidad de infección de los individuos de *D. pulicaria* en el periodo de muestreo de 1996. Se presentan los valores medios de los cinco puntos de muestreo. a) abundance and bodysize, and b) prevalence and burden of *Daphnia pulicaria* individuals during the sampling period of 1996. Mean values for the five sampling sites are shown.

ción es extremadamente baja, presentando todos los individuos infectados un grado 1 de infección. El rango de tamaño del total de los individuos analizados osciló entre 0.689 y 2.99 mm y el tamaño medio fue de 1.507 ± 0.333 ($x \pm s.d.$, $n = 933$). El análisis sobre los individuos de cada punto y día de muestreo se realizó sobre aquellas muestras que presentaban más de 5 individuos analizados y más de 2 niveles de intensidad de infección, resultando un total de 20 muestras. El ANOVA de una vía realizado para cada muestra

reveló que no existen diferencias significativas de tamaño entre individuos infectados y no infectados en cada una de las 20 muestras (valores de $p > 0.05$ para cada muestra). La relación entre el tamaño de los individuos y grado de infección solamente resultó significativa para el punto 1 del 16 de Septiembre (correlación de Spearman; $r = 0.404$, $p < 0.001$, $n = 162$) y para el punto 1 del 24 de Septiembre (correlación de Spearman; $r = 0.272$, $p = 0.015$, $n = 80$).

DISCUSIÓN

La relación entre tamaño del hospedador e infección presenta amplia variabilidad en los estudios de epibiontes sobre crustáceos (ver tabla 1 de Threlkeld *et al.*, 1993). Algunos autores encuentran una relación positiva (Holland & Hergenrader, 1981; Møhlenberg & Kaas, 1990) mientras que otros como Weissmann *et al.* (1993) y Kankaala & Eloranta (1987) no encuentran relación entre la carga de ciliados epibiontes y el tamaño de sus hospedadores. Esta relación puede incluso variar para un mismo sistema y hospedador respecto a distintas especies de epibiontes. Este es el caso de *Chlorangiella* sp. y *Colacium* sp. cuya prevalencia se relaciona positivamente con el tamaño de *D. pulex* y *D. rosea* mientras que la relación de *Carchesium* sp. es negativa con la primera y neutra con la segunda (Threlkeld & Willey, 1993).

Nuestros resultados muestran que no existe relación entre el tamaño de los individuos y la presencia o ausencia de infección, resultado esperable si tenemos en cuenta que el valor de la prevalencia de la infección en las muestras analizadas está por encima del 75 % (Fig. 1). Además, nuestros resultados parecen indicar igualmente que no existe relación entre el tamaño de *D. pulicaria* y el número de epibiontes adheridos sobre su caparazón, aunque la relación es positiva para 2 de las 20 muestras analizadas. De estos hechos pueden obtenerse algunas conclusiones sobre el mecanismo de colonización de *K. gracilipes* sobre *D. pulicaria*. Los altos valores de prevalencia sugieren que la probabilidad de

infección es extremadamente alta para los individuos de *D. pulicaria*. Esta probabilidad depende en gran medida de la tasa de encuentro entre hospedador y epibionte (Chiavelli *et al.*, 1993; Threlkeld *et al.*, 1993; Gaiser & Bachmann, 1993), probablemente facilitada por la asociación espacial que presentan ambas especies en la laguna de Río Seco, donde se observan agregados coincidentes de las densidades de las dos especies (Barea-Arco *et al.*, 2001). La colonización dentro de los agregados de *Daphnia* y zoosporas debe ser continua y muy rápida e independiente del tamaño de los hospedadores. Continuamente se desprenden epibiontes de individuos en proceso de muda y éstos encuentran fácilmente un nuevo individuo para colonizar dentro del agregado.

La relación positiva entre prevalencia y tamaño puede deberse al incremento de las tasas de filtración en individuos de mayor tamaño y, consecuentemente, de las probabilidades de contacto con el epibionte (Stirnadel & Ebert, 1997). Por otro lado, las variaciones en tamaño pueden afectar a la susceptibilidad de infección dado que la probabilidad de encuentro incrementará al aumentar el área superficial del hospedador (Gaiser & Bachmann, 1993). Es probable que la relación tamaño hospedador-intensidad de infección muestre un comportamiento densidad-dependiente de modo que se manifieste en condiciones de baja densidad de una o ambas especies mientras que la relación se debilita al incrementar la densidad de las especies interactuantes. Este sería el caso del sistema *K. gracilipes*-*D. pulicaria* en Río Seco, donde la probabilidad de encuentro entre ambas especies dentro de los agregados es tan alta que podría ser independiente del potencial incremento de la misma debido al tamaño del hospedador o a las corrientes de agua producidas por el mismo.

La colonización puede verse facilitada, además, por la difusión de sustancias químicas atrayentes para el epibionte por parte de *Daphnia*, tal como sugiere Al-Dhaheri & Willey (1996). Es también posible que el individuo en proceso de muda reciba los epibiontes desprendidos de su antigua muda, con lo que el tamaño del

hospedador no influiría en la colonización. De acuerdo con esta última hipótesis, hemos observado en el laboratorio clorangioides adheridos al nuevo exoesqueleto de individuos que aun no habían completado el proceso de muda.

La intensidad de infección depende de la tasa de nuevas colonizaciones y, además, de la tasa de crecimiento del epibionte sobre el hospedador, afectada por la duración del periodo entre mudas. Los individuos analizados en este estudio presentan un amplio rango de tamaño pero son en su mayoría adultos y probablemente muestren pocas diferencias de duración del periodo entre mudas. Este hecho pudo afectar a la ausencia de relación entre ambos parámetros. Por ejemplo, Allen *et al.* (1993) encuentra que la intensidad de infección por diatomeas es mayor en adultos que en juveniles de *Daphnia*, atribuyendo este hecho a la diferencia de la duración del periodo entre mudas entre ambos estadios. Esta hipótesis resulta difícil comprobar en Río Seco, donde *D. pulex* se reproduce mayoritariamente por huevos epipiales.

En resumen, en nuestro estudio no se observa una relación clara entre tamaño del hospedador e infección por *K. gracilipes*. La ausencia de esta relación puede deberse a diversas causas entre las que se destaca la facilitación de la colonización por la estrecha asociación espacial entre ambas especies en la laguna de Río Seco.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los proyectos CICYT AMB94-0021 y CICYT AMB99-0541.

REFERENCIAS

- AL-DHAHERI, R. S. & R.L. WILLEY. 1996. Colonization and reproduction of the epibiotic flagellate *Colacium vesiculosum* (Euglenophyceae) on *Daphnia pulex*. *J. Phycol.*, 32, 770-774.
- ALLEN, Y. C., B. T. DE STASIO & C. W. RAMCHARAN. 1993. Individual and population level consequences of an algal epibiont on *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.*, 38(3), 592-601.
- BAREA ARCO, J., C. PÉREZ MARTÍNEZ & R. MORALES BAQUERO. 2001. Evidence of a mutualistic relationship between an algal epibiont and its host, *Daphnia pulex*. *Limnol. Oceanogr.*, 46:871-881.
- CARMAN, K. R. & F.C. DOBBS. 1997. Epibiotic microorganisms on copepods and other marine crustaceans. *Microsc. Res. Techniq.*, 37, 116-135.
- CHIAVELLI, D. A., E. L. MILLS & S.T. THRELKELD. 1993. Host preference, seasonality, and community interactions of zooplankton epibionts. *Limnol. Oceanogr.*, 38(3), 574-583.
- GAISER, E. E. & R.W. BACHMANN. 1993. The ecology and taxonomy of epizoic diatoms on Cladocera. *Limnol. Oceanogr.*, 38(3), 628-637.
- HOLLAND, R. S. & G.L. HERGENRADER. 1981. Bacterial epibionts of diaptomid copepods. *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 100, 56-65.
- KANKAALA, P. & P. ELORANTA. 1987. Epizoic ciliates (*Vorticella* sp.) compete for food with their host *Daphnia longispina* in a small polyhumic lake. *Oecologia*, 73, 203-206.
- MOHLENBERG, F. & H. KAAS. 1990. *Colacium vesiculosum* Ehrenberg (Euglenophyceae) infestation of planktonic copepods in the western Baltic. *Ophelia*, 31, 125-132.
- POLZ, M. F., J.J. ROBINSON, C.M. CAVANAUGH & C.L. VAN DOVER. 1998. Trophic ecology of massive shrimp aggregations at a Mid-Atlantic Ridge hydrothermal vent site. *Limnol. Oceanogr.*, 43, 1631-1638.
- SANCHEZ-CASTILLO, P. M. 1987. Estudio del ciclo biológico de *Korshikoviella gracilipes* (Lambert) Silva (Chlorococcales, Chlorophyta). *Phycologia*, 26(4), 496-500.
- STIRNADEL, H. A. & D. EBERT. 1997. Prevalence, host specificity and impact on host fecundity of microparasites and epibionts in three sympatric *Daphnia* species. *J. Anim. Ecol.*, 66, 212-222.

- THRELKELD, S. T. & R.L. WILLEY. 1993. Colonization, interaction, and organization of cladoceran epibiont communities. *Limnol. Oceanogr*, 38(3), 584-591.
- THRELKELD, S. T., D.A. CHIAVELLI & R.L. WILLEY. 1993. The organization of zooplankton epibiont communities. *Trends Ecol. Evol.*, 8(9), 317-321.
- WEISSMAN, P., D.J. LONSDALE. & J. YEN. 1993. The effect of peritrich ciliates on the production of *Acartia hudsonica* in Long Island Sound. *Limnol. Oceanogr*, 38(3), 613-622.